

골반신경절 부교감신경세포에서 5-hydroxytryptamine₃ 유발 세포 내 칼슘농도 증가에 대한 Adenylyl Cyclase 및 Protein Kinase A의 조절

Modulatory Role of Adenylyl Cyclase and Protein Kinase A (PKA) in 5-hydroxytryptamine₃ Induced Intracellular Calcium Increase in Parasympathetic Neurons of Rat Major Pelvic Ganglia

Dae Ran Kim¹, Seung Kyu Cha², Kyu Sang Park², Eun Seop Song³, Young Ho Park, Yun Seob Song, In Deok Kong²

From the Department of Urology, Soonchunhyang University College of Medicine, Seoul, ¹Department of Basic Nursing Science, Keimyung University, Daegu, ²Department of Physiology, Yonsei University Wonju College of Medicine, Wonju, ³Department of Obstetrics and Gynecology, Inha University College of Medicine, Incheon, Korea

Purpose: Serotonin has effects on the bladder contraction or urethral sphincter tone. Different subtypes of 5-hydroxytryptamine (5-HT) receptors appear to mediate the effects of serotonin on voiding. 5-HT₁ and 5-HT₂, metamorphic receptors, are examined well. However 5-HT₃, ionotropic receptors, are not examined well. Pelvic ganglia provide the majority of the innervation of the lower urinary tract. Major pelvic ganglia (MPG) in rats are autonomic ganglia, containing both sympathetic and parasympathetic neurons related with voiding. We examined the modulatory role of adenylyl cyclase (AC) and protein kinase A (PKA) in 5-HT₃ induced intra cellular calcium increase in rat MPG.

Materials and Methods: The regulatory effects by AC and PKA were investigated in a single neuron of male rat major pelvic ganglia using patch clamp and fluorescence Ca²⁺ measurement techniques.

Results: Inward currents were induced by 5-HT (10 μ M) at only parasympathetic neurons of MPG. MDL7222 (10⁻⁶M), selective 5-HT₃ receptor antagonists, completely abolished the 5-HT induced inward currents. 5-HT (10 μ M) induced intracellular increases of calcium. These increases were blocked by an AC inhibitor SQ22536 (2 \times 10⁻⁵M) and myristoylated PKA inhibitor (10⁻⁷M). Furthermore, forskolin (10⁻⁶M), AC activator, augmented the 5-HT induced intracellular calcium increase.

Conclusions: The activation of AC/PKA-dependent pathway could enhance 5-HT₃ induced intracellular calcium increase in parasympathetic neurons of rat MPG and these is helpful for the better understanding the mechanisms of the bladder contraction or urethral sphincter tone. (Korean J Urol 2006;47:541-547)

Key Words: Calcium, Parasympathetic ganglia

대한비뇨기과학회지
제 47 권 제 5 호 2006

순천향대학교 의과대학
비뇨기과학교실, ¹계명대학교
간호대학 기초간호과학교실,
²연세대학교 원주의과대학
생리학교실, ³인하대학교 의과대학
산부인과학교실

김대란¹ · 차승규² · 박규상²
송은섭³ · 박영호 · 송운섭 · 공인덕²

접수일자 : 2005년 10월 25일
채택일자 : 2005년 12월 20일

교신저자: 송운섭
순천향대학교 의과대학
비뇨기과학교실
서울시 용산구 한남동 657
☎ 140-743
TEL: 02-709-9375
FAX: 02-790-2468
E-mail: yssong@hosp.
sch.ac.kr

이 논문은 2005년도 순천향대학교 학술
연구조성비 지원에 의한 결과임.

서 론

세로토닌 (5-hydroxytryptamine; 5-HT)은 방광수축력 저하

나 외요도 괄약근 활성화에 영향을 미친다고 알려져 있다.¹
골반신경절은 골반장기 말초신경의 중심으로 중추신경과
골반장기를 연결하는 기능을 하며,² 흰쥐 (rat) 주골반신경
절 (major pelvic ganglia)은 교감, 부교감 신경이 함께 분포하

는바, 방광 신경 조절의 병태생리학적 연구에 유용한 모델이다.³ 세로토닌에 의한 환귀 방광과 외요도 괄약근 활성 조절 기전에서 대사성 (metabolic receptor)인 5-HT₁, 5-HT₂에 비하여 이온성 (ionotropic receptor)인 5-HT₃에 대해서는 연구가 부족하다.

5-HT₃ 수용체는 γ -aminobutyric acid A (GABA_A), 글라이신 (glycine), 니코틴성 아세틸콜린 (nicotinic acetylcholine) 수용체들과 마찬가지로 5개의 소단위로 이루어진 오합체 (pentamer) 구조의 이온통로이다.⁴ 절전신경에 존재하는 5-HT₃ 수용체는 도파민 (dopamine)이나 GABA와 같은 다양한 신경전달물질의 유리를 조절하며, 절후신경에 존재하는 5-HT₃ 수용체는 신경의 흥분성에 중요한 역할을 수행하는 것으로 알려져 있다. 5-HT₃ 수용체의 활성화는 세포 내로 Na⁺과 Ca²⁺의 유입과 K⁺의 유출을 증가시키며, 막전압을 탈분극시킨다.⁴ 이 수용체를 통해 유입된 칼슘과 막전압의 존적 칼슘통로를 통해 증가된 칼슘은 다양한 기능을 수행한다. 5-HT₃ 수용체는 5-HT_{3A}와 5-HT_{3B} 두 개의 아형이 존재하며 이들 수용체의 구성에 따라 약리학적, 생물리학적 차이를 보이는데, 5-HT 수용체의 분포와 그 기능 및 역할이 다양함을 알 수 있다.⁵⁻¹⁰ 세포막의 흥분성 변화와 신경전달물질 자체는 세포 내 칼슘변화를 초래하며, 세포 내 칼슘은 신경전달물질 유리, 호르몬 분비, 신경의 흥분성, 근육의 수축, 유전자 발현, 세포의 성장과 분화 및 세포자사멸 (apoptosis) 등의 다양한 과정의 조절에 중요한 역할을 한다.¹¹

본 연구는 수컷 흰쥐 주골반절에서 5-HT₃ 유발에 의한 세포내 칼슘 증가에 대한 adenylyl cyclase (AC) 및 protein kinase A (PKA)의 조절에 대하여 연구하였다.

대상 및 방법

1. 실험동물

250gm 내외의 흰쥐 (Sprague-Dawley) 수컷을 사용하였다.

2. 실험용액 및 약물

전기생리 실험 및 칼슘 측정에 사용된 세포 외 관류액의 조성 (mM)은 135 NaCl, 5 KCl, 1 MgCl₂, 1.8 CaCl₂, 5 HEPES, 10 glucose이며 Tris를 첨가하여 pH가 7.4가 되도록 적정하였다. 전기생리실험에 사용된 전극 내 용액의 조성 (mM)은 20 KCl, 120 K⁺-aspartate, 10 HEPES, 10 EGTA, 0.1 Tris-phosphocreatine, 5 MgATP, 0.3 Na₂GTP이며, Tris를 첨가하여 pH가 7.2가 되도록 적정하였다. 단, 그라미시딘 천공 패치 (gramicidin-perforated patch)를 위한 전극 내 용액의 조성 (mM)은 140 KCl, 5 EGTA, 10 HEPES, 0.5 CaCl₂, 5 NaCl (pH 7.2)으로 하였으며, 전극 내 용액에는 dimethyl sulfoxide

(DMSO)에 높은 농도로 녹인 gramicidin을 최종농도가 50 μ g/ml가 되도록 첨가하여 사용하였다. 약물의 투여는 perfusion valve control system (VC-6M, Warner instruments, USA)을 이용하였으며, 약물이 나오는 관 끝을 신경세포의 100 μ m 이내에 위치하도록 하여 중력으로 세포에 가해지도록 하였다.

3. 약물

Collagenase type D와 trypsin은 Boeringer Mannheim Biochemicals (Indianapolis, USA)로부터 구입하였으며, fura-2/AM 및 fluo-3/AM은 Molecular Probe (Eugene, USA)로부터, 5-HT 및 MDL7222는 Tocris (Tocris Cookson Inc., Bristol, UK)로부터 구입하였다. Calbiochem Co. (San Diego, USA)으로부터 SQ22536, mirystoylated PKA 차단제를 구입하였고 forskolin, gramicidin, DNA type I 등과 세포배양과 관계된 배지 및 약물은 Sigma Chemical Co. (St. Louis, USA)로부터 구입하였다.

4. 단일 세포 분리 및 유지

흰쥐를 pentobarbital sodium (50mg/kg, ip)으로 마취시킨 후, 즉시 개복하여 전립선 외측의 주골반신경절을 적출하고 이를 4°C Hank's balanced salt 용액 (GibcoBRL)으로 옮겼다. 수초를 벗기고 예리한 칼로 조심스럽게 작은 틈새를 낸 후, 이를 0.7mg/ml collagenase type D, 0.1mg/ml trypsin과 0.1mg/ml DNase type I에 들어있는 10ml의 modified Earle's balanced salt 용액 (EBSS, pH 7.4, GibcoBRL)에서 1시간 동안 배양 (35°C)하였다. 이때 EBSS에는 3.6g/l의 glucose와 10 mM의 HEPES를 포함시켰다. 배양 후 신경세포들을 배양용기에 넣어 흔들어 분리한 후 clinical centrifuge (International Equipment Company, USA)를 이용하여 1,000rpm으로 원심 분리하였다. 분리된 신경세포들을 10% fetal calf serum, 1% glutamine, 1% penicillin-streptomycin이 포함된 MEM (GibcoBRL)에 재부유시킨 뒤, poly-L-lysine으로 coating 되어 있는 cover glass에 위치시켰다. 이를 37°C 세포배양기에서 배양하였으며, 분리한 후 24시간 이내에 실험에 사용하였다.

5. 전기생리학적 실험

전기생리학적 실험은 EPC7 혹은 EPC9 (Instrutech Corp., USA) 패치클램프 증폭기 (patch clamp amplifier)를 이용하여 전세포패치클램프 (whole cell patch clamp) 방법으로 측정하였다. 전극은 Sylgard 184 (Dow Corning, midland, USA)로 코팅하였으며, 전극 내부에 용액을 채웠을 때 저항이 1.5-2.5 M Ω 이 되는 것을 사용하였다. 세포가 붙어있는 cover glass를 도립현미경 (inverted microscopy) 위에 올려놓고 세포 외

액을 중력에 의해 1-2ml/min 속도로 관류시켰다. 세포막전압의 변화는 막전류고정법 (current-clamp method)을 사용하였으며, 막전류 측정 시에는 막전압고정법 (voltage-clamp method)을 사용하여 측정하였다. 막전압고정법 기록을 위해서 세포막의 용량 (capacitance)과 직렬저항 (series resistance)은 80% 이상 보정하였으며, 실험 시 sample rate는 1kHz, low-pass 필터는 2kHz (-3dB; 8-pole Bessel filter)로 하여 기록하였다. 실험결과는 Pulse/Pulsefit (v8.50) (Heka Elektronik, Lambrecht, Germany) 혹은 pCamp6 (Axon Instrument, USA) 소프트웨어로 분석하였다. 모든 실험은 실온 (21-24°C)에서 시행하였다.

6. 세포 내 칼슘이온 농도 측정

세포 내 칼슘농도 측정은 형광현미경 (Olympus Tokyo, Japan)과 이에 연결된 형광측정장치 (Ratio Fluorescence system; Photon Technology International Inc., Lawrenceville, USA)를 이용하였다. 이 시스템에 크게 형광염료가 부하된 세포를 여기 (excitation)시키기 위한 arc lamp housing과 작은 크기의 형광 신호를 증폭시킬 수 있는 photomultiplier 튜브 (PMT tube), 그리고 특정파장의 빛을 통과시킬 수 있는 필터로 구성되어 있다. 이온 농도를 측정하기 위해서는 이온들과 결합하여 형광 특성을 보이는 형광염료를 세포내에 부하시킨 뒤 형광현미경을 통해 방출되는 형광의 세기를 분석하였다. 칼슘이온 농도를 측정하기 위한 형광염료는 칼슘의 농도를 반영하는 fura-2/AM을 사용하였다. 단일 주 골반신경절 세포가 있는 배양접시에 fura-2/AM을 5 μ M 농도로 처리하여 실온에서 빛이 차단된 상태로 30-60분간 두어 세포 내로 부하시켰다. 부하가 끝나면 세포외 관류액으로 2회 세척한 다음 현미경 위에 올려놓고 약물이 포함된

관류액을 중력에 의해 1-2ml/min 속도로 관류시켰다. 이때 나타나는 형광세기의 변화를 기록 및 분석하여 fura-2의 형광인 340nm와 380nm의 빛으로 번갈아 가며 여기시켰을 때 510nm으로 방출 (emission)되는 형광강도의 비율 (F340/F380)이 세포 내 이온농도를 반영하게 된다. 특히 그라미시딘 천공패치방법을 사용하여 세포내 칼슘이온 농도 측정과 함께 세포막 전압이나 전류의 변화를 동시에 측정하였다. 칼슘의 농도는 340nm와 380nm로 여기하였을 때 방출되는 빛의 세기의 비 (ratio F340/F380)로 나타내었으며, 칼슘농도 변화된 양은 Δ ratio (F340/F380)로 나타냈다. 형광 신호들의 측정 및 분석은 Felix 소프트웨어 (Photon Technology International Inc., Lawrenceville, USA)를 통하여 실시하였다.

7. 자료분석

모든 결과는 평균 \pm 표준오차로 나타내었고, 통계적 의의는 분산분석 (ANOVA)을 사용하였으며, 각 군 간의 차이를 위하여 Tukey 방법을 사용하여 사후 검증하였다. 두 군 간의 차이 혹은 약물 처리 전후의 차이에 대한 검정은 각각 Student's t-test (unpaired)과 Student's t-test (paired)으로 확인하였다. 이때 p값은 0.05 미만일 때를 유의한 차이가 있다고 간주하였다.

결 과

1. 5-HT₃ 전류

- 1) 부교감 신경에서 5-HT (10 μ M)는 내향성전류를 유발하였으며, 이 전류는 5-HT₃ 수용체 차단제인 MDL7222 (1 μ M)에 의하여 억제되었다 (Fig. 1).
- 2) 부교감 신경에서 5-HT (10 μ M)는 세포 내 칼슘농도를

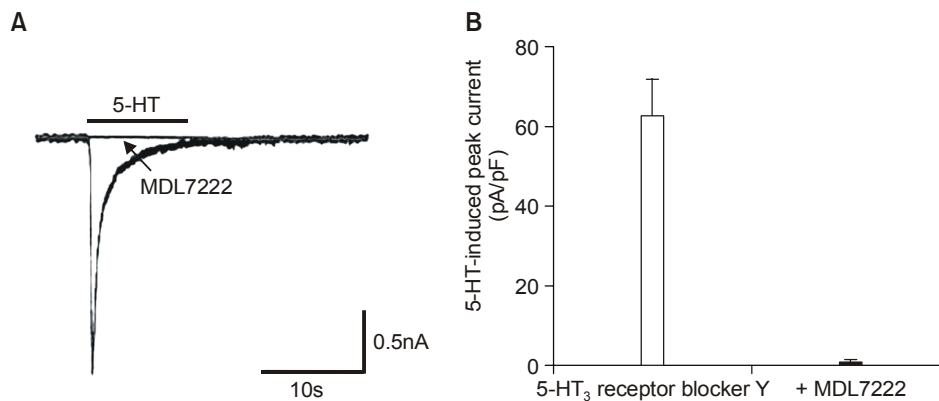


Fig. 1. Effects of 5-HT₃ blocker on the inward currents induced by the treatment of 10 μ M 5-HT in the parasympathetic MPG neurons held at -80 mV. (A, B) The inward currents are blocked by 1 μ M MDL7222, 5-HT₃ blocker. 5-HT: 5-hydroxytryptamine, MPG: major pelvic ganglia.

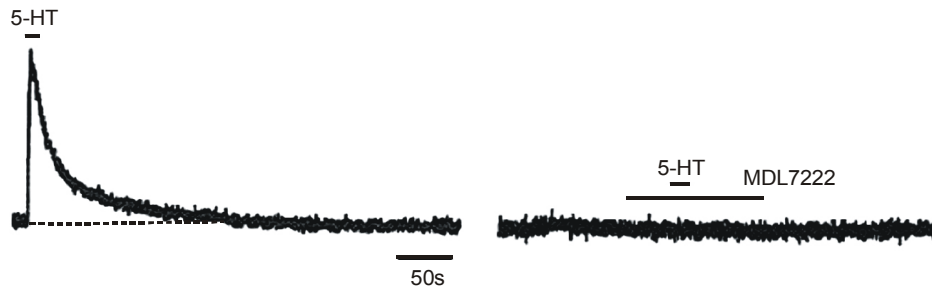


Fig. 2. Effects of 5-HT₃ blocker on the intracellular increase of calcium induced by 10uM 5-HT. Intracellular increases of calcium induced by the treatment of 10uM 5-HT are blocked by the treatment of 1uM MDL7222, 5-HT₃ blocker, in parasympathetic MPG neurons. 5-HT: 5-hydroxytryptamine, MPG: major pelvic ganglia.

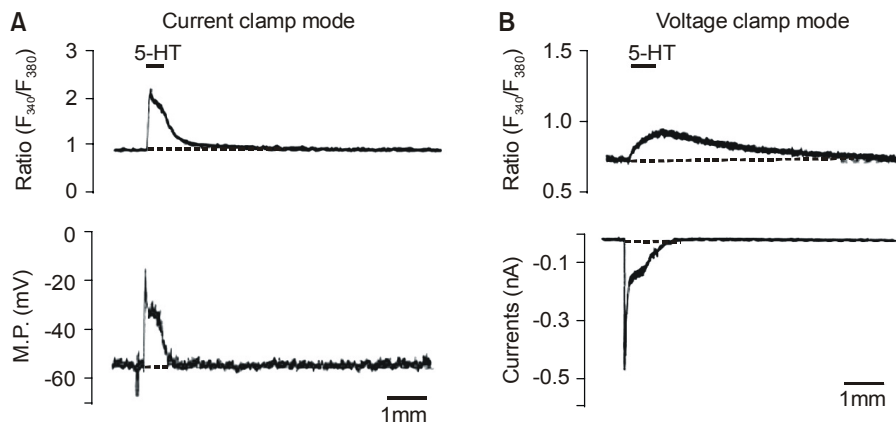


Fig. 3. Intracellular change of calcium ion concentration induced by 5-HT in current or voltage clamp mode in parasympathetic MPG neurons. (A) Changes of intracellular calcium ion concentration and membrane potential induced by the treatment of 10uM 5-HT in current clamp mode ($I=0$) are recorded simultaneously. (B) Changes of intracellular calcium ion concentration and membrane currents induced by the treatment of 10uM 5-HT in current clamp mode (holding potential=-80mV) are recorded simultaneously. 5-HT: 5-hydroxytryptamine, MPG: major pelvic ganglia.

증가시켰으며, 5-HT에 의한 칼슘증가는 5-HT₃ 수용체차단제인 MDL7222 (1 μ M)에 의해 억제되었다 (Fig. 2).

2. 5-HT₃ 수용체 활성화에 의한 세포 내 칼슘 이온 농도 변화

1) 막전류를 고정시킨 상태에서 5-HT (10 μ M)는 막전압 탈분극과 함께 세포 내 칼슘 농도를 급격히 증가시켰다 (Fig. 3A).

2) 막전압을 고정하여 막전압의존성 칼슘통로의 활성화를 배제한 상태에서도 5-HT는 내향성 전류와 함께 세포 내 칼슘농도를 증가시켰다 (Fig. 3B).

3. Adenyl cyclase 활성화제인 forskolin이 5-HT₃ 수용체 활성화에 의한 세포 내 칼슘증가에 미치는 영향

5-HT (10 μ M)에 의한 세포 내 칼슘농도 증가는 forskolin

(1 μ M) 전처리한 후에 증가하였다 (Fig. 4).

4. Adenyl cyclase와 protein kinase A 억제제 5-HT₃ 수용체 활성화에 의한 세포내 칼슘증가에 미치는 영향

1) 5-HT 유발 세포 내 칼슘 증가는 AC 차단제 SQ22536 (2×10^{-5} M)을 전처리한 후에는 감소하였으며, SQ22536를 제거한 후에는 5-HT에 의한 효과가 회복되었다 (Fig. 5A).

2) 5-HT에 의한 세포 내 칼슘증가는 mirystoylated PKA 차단제 PKAI (10^{-7} M)를 전처리한 후엔 감소하였으며, PKAI를 제거한 후에는 5-HT에 의한 효과가 회복되었다 (Fig. 5B).

고 찰

주골반신경절은 다른 자율신경절과는 달리 교감 및 부교감 신경이 같은 신경절 내에 존재하는 독특한 자율 신경절

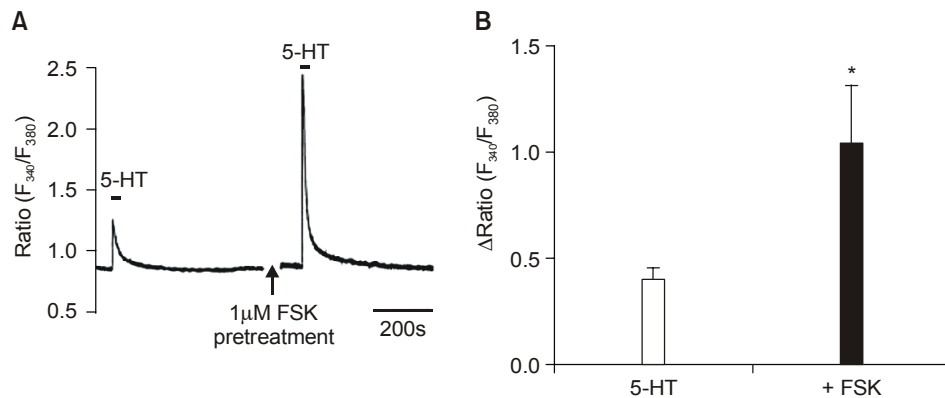


Fig. 4. Effects of the adenylylase activator on the increase of intracellular calcium induced by 5-HT in parasympathetic MPG neurons. (A, B) Intracellular calcium increase induced by 10μM 5-HT is augmented by the treatment of 1μM forskolin, adenylylase activator. FSK: forskolin, Data are expressed mean±SE. * $p < 0.01$. 5-HT: 5-hydroxytryptamine, MPG: major pelvic ganglia.

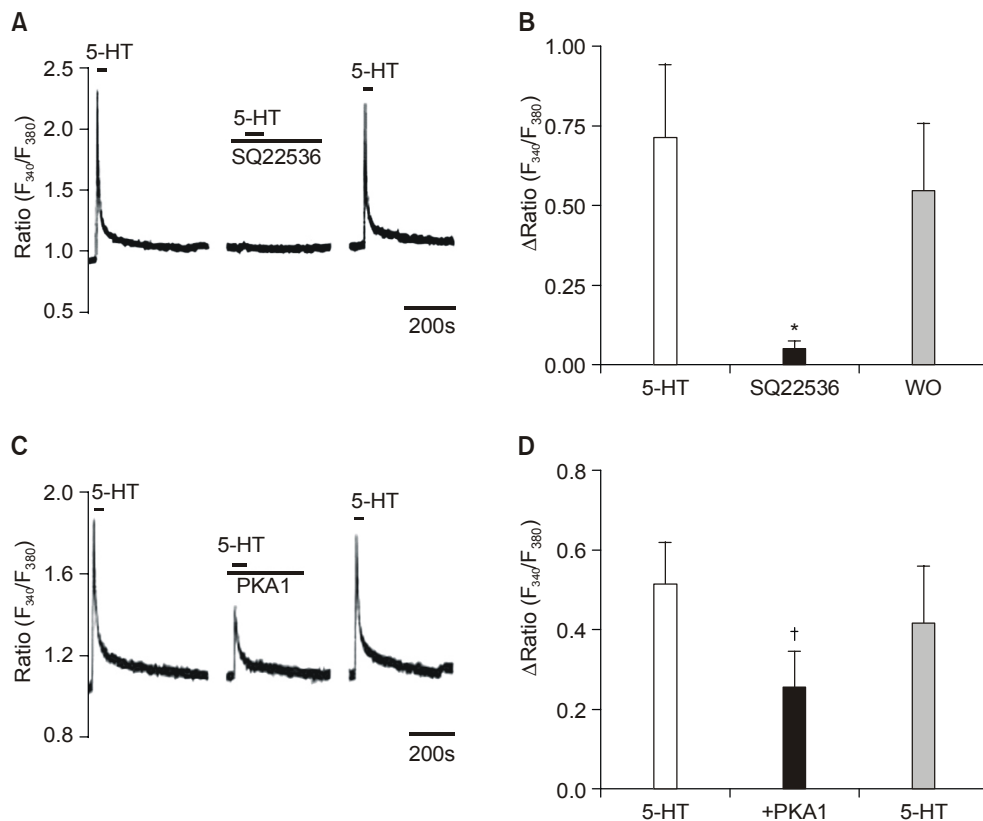


Fig. 5. Effects of AC or PKA on the increase of intracellular calcium induced by 5-HT in parasympathetic MPG neurons. (A, B) Intracellular calcium increase induced by 10μM 5-HT is inhibited by the treatment of 200μM SQ22536, AC inhibitor and recovered without treatment. (C, D) Intracellular calcium increase induced by 10μM 5-HT is inhibited by the treatment of 100nM myristoylated PKA inhibitor and recovered without treatment. Data are expressed mean±SE. AC: adenylylase, PKA: protein kinase A, WO: without treatment of SQ22536. * $p < 0.01$, † $p < 0.05$. 5-HT: 5-hydroxytryptamine, MPG: major pelvic ganglia.

이다.^{12,13} 주골반신경절 신경세포 중 T-형 칼슘전류를 나타내는 대부분은 tyrosine hydroxylase에 대한 면역-조직화적 염색에서 양성을 보이는 교감세포인 반면, T-형 전류가 없

는 세포는 부교감신경 신경세포이다.¹⁴ 본 실험은 이온통로 수용체인 5-HT₃ 수용체가 세포군에 따라 발현의 차이가 있는지를 칼슘영상 및 전기생리학적 방법을 통하여 확인한바,

T-형 칼슘전류가 있는 교감신경세포에서는 5-HT ($10 \mu\text{M}$)에 의해 전류가 유발되지 않았으나, T-형 전류가 없는 부교감 신경에서는 5-HT에 의해 내향성 전류가 유발되었다 (Fig. 1). 그러므로 5-HT₃ 수용체는 GABA_A 수용체가 발현되지 않은 부교감 세포에 주로 존재하며 세포막을 탈분극시키는 것을 알 수 있었다. 이는 5-HT₃ 수용체가 방광 등을 지배하는 부교감신경에 작용할 수 있음을 제시한다.¹⁵

5-HT에 의해 활성화되는 전류가 5-HT₃ 수용체를 통한 것인지 확인하기 위하여 5-HT₃ 수용체 차단제를 사용하여 확인하였다. $10 \mu\text{M}$ 5-HT에 의해 활성화되는 전류가 5-HT₃ 수용체 차단제인 $1 \mu\text{M}$ MDL7222에 의해 완전히 차단되었다 (Fig. 1). 그러므로 주골반신경절 신경세포에서 활성화되는 전류는 5-HT₃ 수용체 전류임을 알 수 있다.

전기생리 실험장치와 형광측정장치를 결합하여 막전압 혹은 전류 변화와 세포 내 칼슘 농도 변화를 동시에 측정하였다. 세포 내 칼슘농도는 Fura-2/AM를 주골반신경절 세포에 부하한 뒤 기록하였다. 부교감 신경에서 5-HT ($10 \mu\text{M}$)는 세포 내 칼슘농도를 증가시켰으며, 5-HT에 의해 증가된 세포 내 칼슘농도는 5-HT₃ 수용체 차단제인 $1 \mu\text{M}$ MDL7222에 의해 완전히 차단되었다 (Fig. 2). 그러므로 주골반신경절 신경세포에서 증가된 세포 내 칼슘농도는 5-HT₃ 수용체를 통한 것임을 알 수 있다.

막전류 고정상태에서 5-HT ($10 \mu\text{M}$)는 막전압 탈분극과 함께 세포 내 칼슘 농도를 급격히 증가시켰다 (Fig. 3A). 한편 막전압을 고정하여 막전압의존성 칼슘통로의 활성화를 배제한 상태에서도 5-HT는 내향성 전류와 함께 세포 내 칼슘농도를 증가시켰다 (Fig. 3B). 막전압 고정법으로 측정한 칼슘 유입량이 전류고정법으로 측정한 양보다 다소 적음을 알 수 있었다. 이는 전류를 고정한 경우 세포 내 칼슘이온의 유입이 5-HT₃ 수용체를 통해 직접 유입되는 부분과 5-HT에 의한 탈분극으로 막전압 의존적 칼슘통로가 활성화 되어 들어오는 부분이 함께 있음을 의미한다.

5-HT 수용체는 PKA와 PKC와 같은 protein kinase들에 의해 조절된다고 알려져 있으나,¹⁶⁻²⁰ cyclic AMP나 PKA에 의한 5-HT₃ 수용체 조절은 알려진 것이 부족하다.¹⁸⁻²⁰ 부교감 주골반신경절 세포에서 5-HT₃ 수용체 활성화에 의한 증가된 칼슘이 AC 활성화제인 forskolin에 의해 영향을 받는지를 조사한 바, 5-HT ($10 \mu\text{M}$)에 의한 칼슘 증가는 forskolin ($1 \mu\text{M}$) 전처리한 후에 현저히 증가하였다 (Fig. 4). 부교감 주골반신경절 세포에서 5-HT₃ 수용체 활성화에 의하여 증가된 세포 내 칼슘농도가 AC-PKA 경로에 의해 일어나는지를 조사한바, 5-HT를 가하였을 때 칼슘이 증가하였고, AC 차단제 SQ22536 ($2 \times 10^{-5} \text{M}$)을 전처리 한 후엔 5-HT에 의한 칼슘 증가는 현저히 감소하였으며, SQ22536를 제거한 후에는 5-HT

에 의한 효과가 회복되었다 (Fig. 5A, B). 이는 5-HT₃ 수용체 활성화에 의하여 증가된 칼슘이 세포 내 cAMP에 의해 조절됨을 의미한다. 부교감 주골반신경절 세포에서 5-HT 수용체가 PKA에 미치는 효과를 알아보기 위해서는 세포막 투과가 가능한 myristoylated PKA inhibitor (PKAI)를 이용하여 확인하였다. 5-HT에 의한 칼슘증가는 PKAI ($0.1 \mu\text{M}$)을 전처리한 후엔 증가함이 현저히 감소하였고, PKAI를 제거한 후에는 5-HT에 의한 효과가 회복되었다 (Fig. 5C, D).

이상에서 AC와 PKA 억제는 부교감 주골반신경절 세포에서 5-HT₃ 수용체에 의한 칼슘증가를 감소시켰으며, 따라서 AC와 PKA는 AC-PKA 의존적 경로를 통해 5-HT₃ 수용체 활성화에 의한 칼슘 증가를 조절할 것으로 생각하며, 이는 방광 수축이나 외요도 괄약근 활성의 조절 기전 이해에 도움이 될 것으로 생각한다.

결 론

주골반신경절에서 5-HT₃ 수용체는 부교감신경세포에 분포하며, 5-HT₃ 수용체 활성화에 의하여 전류, 막전위 및 세포 내 칼슘농도를 증가시켰다. 또한 5-HT₃ 수용체에 의한 세포 내 칼슘농도 증가는 AC 및 PKA 차단제에 의해 감소하였으며, AC 활성화제에 의해 증가하였다. 이러한 결과들은 AC 및 PKA가 cAMP/PKA 경로를 통해 5-HT₃ 수용체를 조절할 수 있음을 시사한다. 이는 자율 신경절에서 5-HT₃의 조절을 규명하는 연구에 주골반신경절이 좋은 도구가 되며, 비뇨생식기 운동 조절의 생리 및 병태생리적 기전을 이해하는 기초자료가 될 것으로 생각한다.

REFERENCES

1. de Groat WC. Influence of central serotonergic mechanisms on lower urinary tract function. *Urology* 2002;59(5 Suppl 1):30-6
2. Keast JR. Unusual autonomic ganglia: connections, chemistry, and plasticity of pelvic ganglia. *Int Rev Cytol* 1999;193:1-69
3. de Groat WC, Booth AM, Yoshimura N. Neurophysiology of micturition and its modification in animal models of human disease. In: Maggi CA, editor. *The autonomic nervous system*. 1st ed. London, UK: Harwood Academic Publisher; 1993;227-90
4. Barnes NM, Sharp T. A review of central 5-HT receptors and their function. *Neuropharmacology* 1999;38:1083-152
5. Raymond JR, Mukhin YV, Gelasco A, Turner J, Colinsworth G, Gettys TW, et al. Multiplicity of mechanisms of serotonin receptor signal transduction. *Pharmacol Ther* 2001;92:179-212
6. van Hooft JA, Vijverberg HP. 5-HT₃ receptors and neurotransmitter release in the CNS: a nerve ending story? *Trends Neurosci* 2000;23:605-10

7. Hapfelmeier G, Tredt C, Haseneder R, Zieglgansberger W, Eisensamer B, Rupprecht R, et al. Co-expression of the 5-HT_{3B} serotonin receptor subunit alters the biophysics of the 5-HT₃ receptor. *Biophys J* 2003;84:1720-33
8. Hill B. Calcium dynamics, epithelial transport, and intercellular coupling. In: Hill B, editor. *Ion channels of excitable membranes*. 3rd ed. Sunderland: Sinauer Associates, Inc.; 2001; 269-306
9. Morales M, Wang SD. Differential composition of 5-hydroxytryptamine₃ receptors synthesized in the rat CNS and peripheral nervous system. *J Neurosci* 2002;22:6732-41
10. Glaum SR, Proudfit HK, Anderson EG. 5-HT₃ receptors modulate spinal nociceptive reflexes. *Brain Res* 1990;510:12-6
11. Morales M, McCollum N, Kirkness EF. 5-HT₃ receptor subunits A and B are co-expressed in neurons of the dorsal root ganglion. *J Comp Neurol* 2001;438:163-72
12. Dail WG. Autonomic innervation of male reproductive genitalia. In: Maggi CA, editor. *The autonomic nervous system. Nervous control of the urogenital system*. London: Harwood Academic Publishers; 1992;69-101
13. Keast JR. Unusual autonomic ganglia: connections, chemistry, and plasticity of pelvic ganglia. *Int Rev Cytol* 1999;193:1-69
14. Zhu Y, Zboran EL, Ikeda SR. Phenotype-specific expression of T-type calcium channels in neurons of the major pelvic ganglion of the adult male rat. *J Physiol* 1995;489:363-75
15. Akasu T, Hasuo H, Tokimasa T. Activation of 5-HT₃ receptor subtypes causes rapid excitation of rabbit parasympathetic neurones. *Br J Pharmacol* 1987;91:453-5
16. Sun H, Hu XQ, Moradel EM, Weight FF, Zhang L. Modulation of 5-HT₃ receptor-mediated response and trafficking by activation of protein kinase C. *J Biol Chem* 2003;278:34150-7
17. Hubbard PC, Thompson AJ, Lummis SC. Functional differences between splice variants of the murine 5-HT_{3A} receptor: possible role for phosphorylation. *Brain Res Mol Brain Res* 2000; 81:101-8
18. Knight AR, Bowery NG. The pharmacology of adenylyl cyclase modulation by GABA_B receptors in rat brain slices. *Neuropharmacology* 1996;35:703-12
19. Kubota H, Katsurabayashi S, Moorhouse AJ, Murakami N, Koga H, Akaike N. GABA_B receptor transduction mechanisms, and cross-talk between protein kinase A and C, in Gabaergic terminals synapsing onto neurons of the rat nucleus basalis of Meynert. *J Physiol* 2003;551:263-76
20. Taniyama K, Niwa M, Kataoka Y, Yamashita K. Activation of protein kinase C suppresses the gamma-aminobutyric acid B receptor-mediated inhibition of the vesicular release of noradrenaline and acetylcholine. *J Neurochem* 1992;58:1239-45